

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003年9月12日 (12.09.2003)

PCT

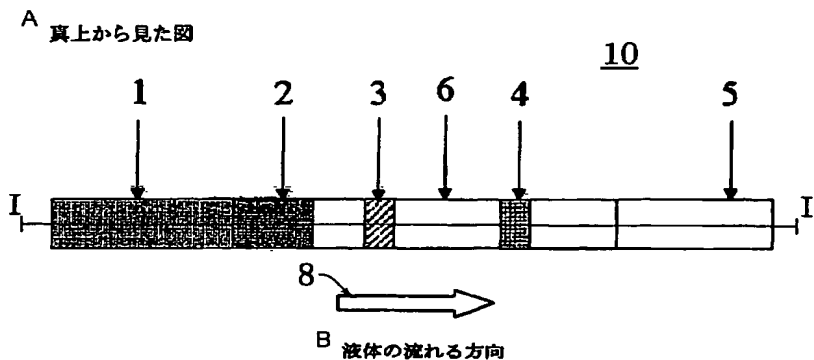
(10) 国際公開番号
WO 03/075011 A1

- (51) 国際特許分類⁷: G01N 33/543, 33/553, 33/53 (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ (ENBIOTEC LABORATORIES CO., LTD.) [JP/JP]; 〒135-8073 東京都江東区青海2丁目4番地 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/02657
- (22) 国際出願日: 2003年3月6日 (06.03.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (72) 発明者; および
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 水上 春樹 (MIZUKAMI, Haruki) [JP/JP]; 〒135-8073 東京都江東区青海2丁目4番地 株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ内 Tokyo (JP). 西和人 (NISHI, Kazuto) [JP/JP]; 〒135-8073 東京都江東区青海2丁目4番地 株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ内 Tokyo (JP).
- (30) 優先権データ:
特願2002-62050 2002年3月7日 (07.03.2002) JP
特願2002-304709 2002年10月18日 (18.10.2002) JP

[続葉有]

(54) Title: INSTRUMENTS FOR DETECTING LOW-MOLECULAR WEIGHT SUBSTANCE

(54) 発明の名称: 低分子物質検出用器具



A...OVERHEAD VIEW

B...LIQUID FLOW DIRECTION

(57) Abstract: It is intended to provide the following instruments 1 and 2 with the use of immunochromatography whereby a low-molecular weight substance typified by an environmental pollutant such as dioxin can be conveniently and highly sensitively detected as a target substance in a test sample. 1. An instrument for detecting a low-molecular weight substance with the use of immunochromatography which comprises: 1) a part which is applied to a test sample to be in contact therewith; 2) a label reaction part containing a label which carries as a part thereof an antibody in the unbound state capable of binding to a target in the test sample; 3) an unreacted label-capturing part containing a factor in the bound state which can capture the free label not binding to the target; and 4) a detection part containing a detection factor which shows a visual change upon contact with the target bound to the label. 2. An instrument for detecting a low-molecular weight substance wherein a test sample for the instrument for detecting a low-molecular weight substance is employed as a reactant in a reaction between a labeled antibody carrying a part thereof an antibody capable of binding to a target in a test sample and the test sample.

(57) 要約: ダイオキシン類等の環境汚染物質に代表される低分子物質を、被験物質中の標的物質として、簡便かつ高感度な検出を行うことが可能なイムノクロマトグラフィーを用いた低分子物質検出用器具として、下記1, 2の検出器具を提供

[続葉有]



WO 03/075011 A1



(74) 代理人: 志村 光春 (SHIMURA, Mitsuharu); 〒150-0031
東京都 渋谷区 桜丘町 9-3 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO,
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,
ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,

AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

する: 1. 1) 被験試料を接触させるための被験試料適用部位、2) 被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体を非結合状態で含む標識体反応部位、3) 標的物質に結合していないフリーの標識体を捕捉することが可能な要素を結合状態で含む未反応標識体捕捉部位、および、4) 標識体が結合した標的物質と接触すると視覚的な変化を生じる検出要素を含む検出部位が設けられている、イムノクロマトグラフィーを用いた低分子物質検出用器具。2. 低分子物質検出用器具の被験試料を、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体と被験試料の反応物として用いる、低分子物質検出用器具。

明細書

低分子物質検出用器具

技術分野

本発明は、特定物質の検出器具に関する発明である。

背景技術

近年、ダイオキシン類、P C B類、その他の環境汚染物質による、環境汚染が深刻化し、人体および生体への影響が懸念されている。これまで、ダイオキシン類等の環境汚染物質の検出方法としては、ガスクロマトグラフ質量分析法（G C－M S法）を中心とした分析法が用いられてきた。G C－M S法は、公定分析法として用いられており、その感度、精度共、非常に優れた方法であるが、特殊な装置を必要とするために、分析コストが高く、分析の手順自体も煩雑である等の問題点が認められる。

ダイオキシン類等の環境汚染物質を、一般的には、G C－M S法よりも簡便な、これらの化学物質に対する抗体を用いるE L I S A法により、検出を行うことは、上記の問題点の解決手段の一つとして認められている。

しかしながら、E L I S A法には、定量性に優れ、高感度であるが、通常、サンプルの検出に、特殊な機器を必要とするか、必要としない場合であっても、検出するまでの時間が1時間以上かかる、等の欠点が認められる。これらの欠点を補うため、操作が簡単で、高感度であり、検出時間が短い、免疫クロマトグラフィーが注目されている。

免疫クロマトグラフィーにおいて最も広く利用されているE L I S A法の態様としては、被験物質である高分子物質（それ自身で抗原性を有する物質）の異なる部位に結合する2種類の抗体を利用したサンドイッチ法が挙げられる（特開平10-62420号公報、特開2001-124771号公報等）。このサンドイッチ法を利用した検出器具では、標的物質となっている高分子物質の濃度に比例した強度の着色を生じ、被験物質の検出が容易であることから、病院での臨床検査、家庭での妊娠検査等において、広く普及している。

被験物質が、ダイオキシン類やP C B類のように、低分子化合物である場合は、低分子化合物と抗体との分子量の差が著しいため、サンドイッチ法を適用することは困難である。このため、低分子化合物を免疫クロマトグラフィーで検出するには、標的となる低分子化合物と、低分子化合物もしくは低分子化合物に対する類似化合物を、抗体に対する結合において競合させて、標的低分子化合物を検出する、競合法が適しているとも考えられる。

しかしながら、競合法を用いた場合は、低分子化合物の濃度に反比例した強度の着色を指標にせざるを得ないため、標的物質の濃度に比例した強度の着色を指標とするサンドイッチ法に比較し、被験物質の判定が煩雑となる。このため、競合法を用いた免疫クロマトグラフィーは、広く普及するに至っておらず、ダイオキシンやP C B等の低分子の環境汚染物質の検出に用いることも困難である。

発明の開示

本発明者は、この課題を解決するために、被験試料を接触させるための被験試料適用部位が設けられており、当該被験試料適用部位に接触させた被験試料中の標的物質を、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体における標識を指標にして、被験試料中の標的物質を検出可能な、イムノクロマトグラフィーを用いた低分子物質検出用器具（以下、本検出器具ともいう）を提供することにより、この課題を解決し得ることを見出した。

本検出器具において、被験試料中の標的物質は、微量成分として生活環境に存在する低分子人工化学物質（以下、これらの物質を、「環境汚染物質」と総称することもある）である。環境汚染物質としては、特に、いわゆる「環境ホルモン」として、内分泌攪乱作用が疑われる物質が、好適な対象として挙げられる。具体的には、ダイオキシン類、ポリ塩化ビフェニール（P C B）類、ポリ臭化ビフェニール（P B B）類、ヘキサクロロベンゼン（H C B）、ペンタクロロフェノール（P C P）、2, 4, 5-トリクロロフェノキシ酢酸、2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸、アミトロール、アトラジン、アラクロール、C A T（シマジン）、ヘキサクロロシクロヘキサン、エチルパラチオン、N A C（カルバリル）、クロルデン、オキシクロルデン、trans-ノナクロル、1, 2-ジブromo-3-クロロプロパン、D D

T (ジクロロジフェニルトリクロロエタン)、DDE (ジクロロジフェニルトリクロロエチレン)、DDD (ジクロロジフェニルジクロロエタン)、ケルセン、アルドリン、エンドリン、ディルドリン、エンドスルファン (ベンゾエピン)、ヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシサイド、マラチオン、メソミル、メトキシクロル、マイレックス、ニトロフェン、トキサフェン、トリブチルスズ、トリフェニルスズ、トリフルラリン、アルキルフェノール (C 5 ~ C 9) ノニルフェノール、オクチルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジエチル、ベンゾ (a) ピレン、2, 4-ジクロロフェノール、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン、アルディカーブ、ベノミル、キーボン (クロルデコン)、マンゼブ (マンコゼブ)、マンネブ、メチラム、メトリブジン、シベルメトリン、エスフェンバレレート、フェンバレレート、ペルメトリン、ピンクロゾリン、ジネブ、ジラム、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピル等が挙げられる。

上に列挙した環境汚染物質の中でも、最も典型的には、ダイオキシン類やPCB類が挙げられる。ダイオキシン類としては、例えば、ダイオキシン類特別措置法で指定されている29種類のダイオキシン類を挙げることができる。すなわち、2, 3, 7, 8-T₄ CDD、1, 2, 3, 7, 8-P₅ CDD、1, 2, 3, 4, 7, 8-H₆ CDD、1, 2, 3, 6, 7, 8-H₆ CDD、1, 2, 3, 7, 8, 9-H₆ CDD、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H₇ CDD、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O₈ CDD等のジベンゾダイオキシン類；3, 4, 4', 5-T₄ CB、3, 3', 4, 4'-T₄ CB、3, 3', 4, 4', 5-P₅ CB、3, 3', 4, 4', 5, 5'-H₆ CB、2, 3, 3', 4, 4'-P₅ CB、2, 3, 4, 4', 5-P₅ CB、2, 3', 4, 4', 5-P₅ CB、2', 3, 4, 4', 5-P₅ CB、2, 3, 3', 4, 4', 5-H₆ CB、2, 3, 3', 4, 4', 5'-H₆ CB、2, 3', 4, 4', 5, 5'-H₆ CB、2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H₇ CB等のコプラナーPCB類；2, 3, 7, 8-T₄ CDF、1, 2, 3, 7, 8-P₅ CDF、2, 3, 4, 7, 8-P₅ CDF、1, 2, 3, 4, 7, 8-H₆ CDF、1, 2, 3, 6, 7, 8-H₆ CDF、1, 2, 3, 7, 8, 9-H₆ CDF、2, 3, 4, 6, 7, 8-H₆ CDF、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H₇ CDF、1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H₇ CDF、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O₈ CDF等のジベンゾフラン類等が挙げられる。

PCB類としては、例えば、2-Monochlorobiphenyl、3-Monochlorobiphenyl、

4-Monochlorobiphenyl ;

2, 2'-Dichlorobiphenyl, 2, 3-Dichlorobiphenyl, 2, 3'-Dichlorobiphenyl, 2, 4-Dichlorobiphenyl, 2, 4'-Dichlorobiphenyl, 2, 5-Dichlorobiphenyl, 2, 6-Dichlorobiphenyl, 3, 3'-Dichlorobiphenyl, 3, 4-Dichlorobiphenyl, 3, 4'-Dichlorobiphenyl, 3, 5-Dichlorobiphenyl, 4, 4'-Dichlorobiphenyl ;

2, 2', 3-Trichlorobiphenyl, 2, 2', 4-Trichlorobiphenyl, 2, 2', 5-Trichlorobiphenyl, 2, 2', 6-Trichlorobiphenyl, 2, 3, 3'-Trichlorobiphenyl, 2, 3, 4-Trichlorobiphenyl, 2, 3, 4'-Trichlorobiphenyl, 2, 3, 5-Trichlorobiphenyl, 2, 3, 6-Trichlorobiphenyl, 2, 3', 4-Trichlorobiphenyl, 2, 3', 5-Trichlorobiphenyl, 2, 3', 6-Trichlorobiphenyl, 2, 4, 4'-Trichlorobiphenyl, 2, 4, 5-Trichlorobiphenyl, 2, 4, 6-Trichlorobiphenyl, 2, 4', 5-Trichlorobiphenyl, 2, 4', 6-Trichlorobiphenyl, 2', 3, 4-Trichlorobiphenyl, 2', 3, 5-Trichlorobiphenyl, 3, 3', 4-Trichlorobiphenyl, 3, 3', 5-Trichlorobiphenyl, 3, 4, 4'-Trichlorobiphenyl, 3, 4, 5-Trichlorobiphenyl, 3, 4', 5-Trichlorobiphenyl ;

2, 2', 3, 3'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 5'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 6'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 5'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 6'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 5, 5'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 5, 6'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 2', 6, 6'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 5'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 4, 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 4, 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 4', 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 4', 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 5, 6-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3', 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3', 4, 5-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3', 4, 5'-

Tetrachlorobiphenyl、2, 3', 4, 6-Tetrachlorobiphenyl、2, 3', 4', 5-Tetrachlorobiphenyl、2, 3', 4', 6-Tetrachlorobiphenyl、2, 3', 5, 5'-Tetrachlorobiphenyl、2, 3', 5', 6-Tetrachlorobiphenyl、2, 4, 4', 5-Tetrachlorobiphenyl、2, 4, 4', 6-Tetrachlorobiphenyl、2', 3, 4, 5-Tetrachlorobiphenyl、3, 3', 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl、3, 3', 4, 5-Tetrachlorobiphenyl、3, 3', 4, 5'-Tetrachlorobiphenyl、3, 3', 5, 5'-Tetrachlorobiphenyl、3, 4, 4', 5-Tetrachlorobiphenyl ;

2, 2', 3, 3', 4-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 5-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 3', 6-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 4'-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4, 5-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 5'-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4, 6-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 6'-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4', 5-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 5, 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 5, 6'-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3, 5', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 6, 6'-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 3', 4, 5-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 3', 4, 6-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 4, 4', 6-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 4, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 4, 5, 6'-Pentachlorobiphenyl、2, 2', 4, 5', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 2', 4, 6, 6'-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 3', 4, 4'-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 3', 4, 5-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 3', 4', 5-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 3', 4, 5'-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 3', 4, 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 3', 4', 6-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 3', 5, 5'-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 3', 5, 6-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 3', 5', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 4, 4', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 3, 4, 5, 6-Pentachlorobiphenyl、2, 3, 4', 5, 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 3', 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl、2, 3', 4, 4', 6-Pentachlorobiphenyl、
2, 3', 4, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl、2, 3', 4, 5', 6-Pentachlorobiphenyl、
2', 3, 3', 4, 5-Pentachlorobiphenyl、2', 3, 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl、
2', 3, 4, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl、2', 3, 4, 5, 6'-Pentachlorobiphenyl、

3, 3', 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl, 3, 3', 4, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl ;
2, 2', 3, 3', 4, 4'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 5-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 4, 5'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 4, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 5, 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 5, 6'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 6, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4', 4, 5-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4, 4', 5'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4, 4', 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4, 4', 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4, 4, 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4, 5, 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4, 5, 6'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4, 5', 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4, 6, 6'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4', 5, 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4', 5, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4', 5', 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 4', 6, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 5, 5', 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 5, 6, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 2', 4, 4', 5, 6'-Hexachlorobiphenyl, 2, 2', 4, 4', 6, 6'-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 3', 4, 4', 5-Hexachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4, 4', 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 3', 4, 4', 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4, 5, 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 3', 4, 5, 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4, 5', 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 3', 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 4', 5, 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 3', 4', 5', 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 3, 3', 5, 5', 6-Hexachlorobiphenyl,
2, 3, 4, 4', 5, 6-Hexachlorobiphenyl, 2, 3', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl,
2, 3', 4, 4', 5', 6-Hexachlorobiphenyl, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl ;
2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 4', 6-
Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 5, 5'-Heptachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 4, 5, 6-Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 5, 6'-
Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4, 5', 6-Heptachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 4, 6, 6'-Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 4', 5, 6'-
Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 3', 5, 5', 6-Heptachlorobiphenyl,
2, 2', 3, 3', 5, 5, 6'-Heptachlorobiphenyl, 2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-

Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 4', 5, 6-Heptachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4, 4', 5, 6'-Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-
Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 4', 6, 6'-Heptachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4, 5, 5', 6-Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 5, 6, 6'-Heptachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4', 5, 5', 6-Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4', 5, 6, 6'-
Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3', 4, 4', 5, 5'-Heptachlorobiphenyl、
2, 2', 3', 4, 4', 5, 6-Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3', 4, 4', 5', 6-
Heptachlorobiphenyl、2, 2', 3', 4, 5, 5', 6-Heptachlorobiphenyl、
2, 2', 3', 4', 5, 5', 6-Heptachlorobiphenyl ;

2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5'-Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6-
Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 4', 5', 6-Octachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 3', 4, 4', 6, 6'-Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 5, 5', 6-
Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 5, 6, 6'-Octachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 3', 4, 5', 6, 6'-Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4', 5, 5', 6-
Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 5, 5', 6, 6'-Octachlorobiphenyl、
2, 2', 3, 4, 4', 5, 5', 6-Octachlorobiphenyl、2, 2', 3, 4, 4', 5, 6, 6'-
Octachlorobiphenyl、2, 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-Octachlorobiphenyl ;

2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-Nonachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6'-
Nonachlorobiphenyl、2, 2', 3, 3', 4, 5, 5', 6, 6'-Nonachlorobiphenyl ;
Decachlorobiphenyl等が挙げられる。

なお、上述したような、本検出器具において用いるべき、ダイオキシン類やP
C B類に対する抗体を調製する場合の指針は、被験試料におけるダイオキシン類
やP C B類の毒性を推定する場合と、これらの環境汚染物質の総量を推定する場
合とでは、ターゲットとして好適な異性体が異なる。例えば、被験試料のダイオ
キシン類による毒性を推定する場合は、被験物質中のダイオキシン類の全毒性に
占める割合が高い、1, 2, 3, 7, 8-P₅ C C D、2, 3, 4, 7, 8-P₅ C D F、または、
3, 3', 4, 4', 5-P₅ C B等をターゲットとするのが好適である。また、被験試料に
おけるダイオキシン類の総量を推定する場合には、ダイオキシン類として被験試
料中に含まれる濃度が高い傾向が強い、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O₈ C D D、

1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O₈ C D F、または、2, 3', 4, 4', 5-P₅ C B等をターゲットとすることが好適である。

被験試料は、ダイオキシン類やP C B類等の、環境関連低分子物質であれば限定されず、例えば、大気、土壌、湖水や海水等の水試料等が挙げられる。被験試料は、その性質に応じて、様々の前処理、例えば、希釈処理、濾過処理、濃縮処理等を行って、これを被験試料として、本検出器具を適用することもできる

本検出器具としては、以下の2種類の主要な態様が挙げられる。

第1に、本発明は、本検出器具が、1) 被験試料を接触させるための被験試料適用部位、2) 被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体を非結合状態で含む標識体反応部位、3) 標的物質に結合していないフリーの標識体を捕捉することが可能な要素を結合状態で含む未反応標識体捕捉部位、および、4) 標識体が結合した標的物質と接触すると視覚的な変化を生じる検出要素を含む検出部位が設けられている態様（以下、本検出器具Aともいう）の本検出器具を提供する発明である。

第2に、本発明は、本発明器具が、低分子物質検出用器具の被験試料が、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体と被験試料の反応物であり、当該被験試料中の標的物質を検出可能な態様（以下、本検出器具Bともいう）の本発明器具を提供する発明である。

図面の簡単な説明

第1図は、本検出器具Aの一実施態様を示した図面（上面図）である。

第2図は、本検出器具Aの一実施態様を示した図面（横断面図）である。

第3図は、本検出器具Bの一実施態様を示した図面（上面図）である。

第4図は、本検出器具Bの一実施態様を示した図面（横断面図）である。

第5図は、本検出用セットの構成要素として用いられ得る、標識抗体を封入した容器を表した図面である。

発明を実施するための最良の形態

本検出器具A

第1図は、本検出器具Aの一実施態様を示した図面（上面図）であり、第2図は、第1図の本検出器具A10を、実線I-I'に沿って横断して示した横断面図である。

本検出器具A10において、被験試料適用部位1、標識体反応部位2、メンブレン6、および、吸収部位5は、各々、細長形状の薄膜7の上面に全部または一部が、接着している。また、未反応標識体捕捉部位3と検出部位4は、メンブレン6上に、各々、設けられている。より詳細には、まず、薄膜7の一端に、被験試料適用部位1の一端側が接着されている。これに対して、被験試料適用部位1の他端側は、その一端が被験試料適用部位1の薄膜7との接着部分（被験試料適用部位1の一端側）と隣合って、薄膜7に接着されている標識体反応部位2の、一端側の上面に被さって、標識体反応部位2と接触している。また、標識体反応部位2の他端側は、その一端が標識体反応部位2の薄膜7との接着部分（標識体反応部位2の一端側）と隣合って、その全面が薄膜7に接着されているメンブレン6の一端側の上面に被さって、メンブレン6と接触している。薄膜7の他端には、吸収部位5の一端側が接着されている。これに対して、吸収部位5の他端側は、メンブレン6の他端側の上面に被さって、メンブレン6と接触している。

未反応標識体捕捉部位3と検出部位4は、両者共、これらの部位を構成する化学成分を、メンブレン6に固定することにより、メンブレン6において設けられている。

本検出器具A10において、被験試料は、これを接触させる被験試料適用部位1から吸収部位5に向けて、毛細管現象により移動して、被験試料中の低分子物質の検出が行われる（以下、本検出器具Aの被験試料適用部位側を「上流」、同吸収部位側を「下流」ともいう）。第1図および第2図において、上流から下流への被験試料の移動方向は、矢印8により示される。

被験試料適用部位1の材質は、この被験試料適用部位1に接触させた被験試料が、毛細管現象によって下流の標識体反応部位2に移動可能な材質であれば特に限定されない。例えば、濾紙等の紙類、起毛素材等の布類、コットン、グラスファイバー等を挙げることができる。

被験試料を、本検出器具A10の被験試料適用部位1に接触させて、標識体反

応部位 2 と接触している部分に到達すると、さらに、毛細管現象により、被験試料は、標識体反応部位 2 に移行する。

標識体反応部位 2 は、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体を非結合状態で含む部位である。

この標識体反応部位 2 において用いる抗体は、検出の対象とする環境汚染物質を選んで、これを免疫抗原（必要に応じて、目的とする環境汚染物質をターゲットとしたハプテンとキャリア蛋白との免疫抗原とすることも可能である）として、常法により製造して用いることができる。

すなわち、上記抗体がポリクローナル抗体の場合には、目的とするダイオキシン類や PCB 類等を免疫抗原として免疫した動物に由来する免疫血清から製造することが可能であり、同じくモノクローナル抗体の場合には、ポリクローナル抗体と同様の方法で、免疫した動物の免疫細胞と動物の骨髓腫細胞とのハイブリドーマを作出し、これにより目的とするダイオキシン類や PCB 類等を認識する抗体を産生するクローンを選択し、このクローンを培養することにより製造することができる。

免疫される動物も特に限定されるものではなく、マウス、ラット等を広く用いることができるが、モノクローナル抗体を製造する場合には、細胞融合に用いる骨髓腫細胞との適合性を考慮して選択することが望ましい。

免疫は一般的方法により、例えば上記免疫抗原を免疫の対象とする動物に静脈内、皮内、皮下、腹腔内注射等で投与することにより行うことができる。

より具体的には、上記免疫抗原を所望により通常のアジュバントと併用して、免疫の対象とする動物に 2 ～ 4 週間毎に上記手段により数回投与し、ポリクローナル抗体製造のための免疫血清又はモノクローナル抗体製造のための免疫細胞、例えば免疫後の脾臓細胞を得ることができる。

モノクローナル抗体を製造する場合、この免疫細胞と細胞融合する他方の親細胞としての骨髓腫細胞としては、既に公知のもの、例えば SP2/0-Ag14, P3-NS1-1-Ag4-1, MPC11-45, 6, TG1.7（以上、マウス由来）；210.RCY.Ag1.2.3（ラット由来）；SKO-007, GM15006TG-A12（以上、ヒト由来）等を用いることができる。

上記免疫細胞とこの骨髓腫細胞との細胞融合は、通常公知の方法、例えばケーラーとミルシュタインの方法 (Köhler, G. and Milstein, C., Nature, 256, 495 (1975)) 等に準じて行うことができる。

より具体的には、この細胞融合は、通常公知の融合促進剤、例えばポリエチレングリコール (PEG), センダイウイルス (HVJ) 等の存在下において、融合効率を向上させるためにジメチルスルホキシド等の補助剤を必要に応じて添加した通常の培養培地中で行い、ハイブリドーマを調製する。

所望のハイブリドーマの分離は、通常の選別用培地、例えばHAT (ヒポキサンチン, アミノプテリン及びチミジン) 培地で培養することにより行うことができる。すなわち、この選別用培地において目的とするハイブリドーマ以外の細胞が死滅するのに十分な時間をかけて培養することによりハイブリドーマの分離を行うことができる。このようにして得られるハイブリドーマは、通常の限界希釈法により目的とするモノクローナル抗体の検索及び単一クローン化に供することができる。

目的とするモノクローナル抗体産生株の検索は、例えばELISA法、プラーク法、スポット法、凝集反応法、オクタロニー法、RIA法等の一般的な検索法に従い行うことができる。

このようにして得られる環境汚染物質を認識するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、通常の培地で継代培養することが可能であり、さらに液体窒素中で長時間保存することもできる。

このハイブリドーマからの目的とするモノクローナル抗体の採取は、ハイブリドーマを常法に従って培養して、その培養上清として得る方法や、ハイブリドーマを、このハイブリドーマに対して適合性が認められる動物に投与して増殖させ、その腹水として得る方法等を用いることができる。

このようにして得られるポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体は、更に塩析、ゲル濾過法、アフィニティクロマトグラフィー等の通常的手段により精製することができる。

標識体反応部位2において用いる標識体は、通常、上記のような環境汚染物質に対する抗体を標識した標識抗体であることが好適である。

かかる標識としては、例えば、金コロイド粒子等の金属コロイド粒子、ラテックス粒子、西洋ワサビペルオキシダーゼ等の発色機能を有する酵素等を用いることができる。すなわち、これらの標識と抗体を、常法により結合させて、標識体反応部位 2 において用いることができる。

標識体反応部位 2 では、被験試料が、被験試料適用部位 1 から移動してきて、その中の標的物質の存在如何にかかわらず、被験試料と共に、毛細管現象によって、さらに下流の未反応標識体捕捉部位 3 に向けて移動可能となるように、上記の標識体は、標識体反応部位 2 の素材とは、非結合状態で存在していることが必要である。よって、上記の標識体は、標識体反応部位の素材に単純に染み込ませて定着させる等に止めることが好適である。また、標識体反応部位 2 の素材としては、このような単純な定着と溶離を実現しやすい素材が好適である。具体的には、濾紙等の紙類、起毛素材等の布類、コットン、グラスファイバー等を挙げることができる。

被験試料中に、標的物質が存在する場合には、標識体と標的物質が結合した標識複合体と、フリーの標識体が、下流に向けて移動し、標的物質が存在しない場合には、フリーの標識体のみが、下流に向けて移動する。

本検出器具 A 10 においては、メンブレン（毛細管現象により、液相の移動が可能な素材、例えば、多孔性のクロマトメンブレン、ニトロセルロースメンブレン等が好適である。特に、多孔性のクロマトメンブレンは、多孔性故、西洋ワサビペルオキシダーゼ等の蛋白質や、金コロイド粒子等の金属コロイド粒子、ラテックス粒子等の標識がメンブレン中を容易に移動可能であり、好適である。）上に、未反応標識体捕捉部位 3 と検出部位 4 が、上流から下流に向けて設けられている。

毛細管現象により、上流から移動してきた、標識複合体および／またはフリーの標識体は、まず、未反応標識体捕捉部位 3 に接触する。未反応標識体捕捉部位には、文字通り、未反応のフリーの標識体のみを捕捉することができる機能が付与されている。かかる機能の態様としては、標識体の一部を構成する標的物質に対する抗体が反応して結合することが可能な物質、具体的には、標的物質そのもの、または、このような結合反応が認められる標的物質の類似物質を挙げること

ができる。未反応標識体捕捉部位 3 では、これらの標的物質等が、液相の移動に伴って、移動することのないよう、結合状態であることが必要である。標的物質は、低分子物質であるため、所望の結合状態とするためには、例えば、B S A 等のキャリア蛋白に、標的物質等を結合させ、この蛋白結合させた標的物質等を、蛋白固定の常法により、未反応標識体捕捉部位 3 に、結合状態で定着させることが好適である。

このように、未反応標識体捕捉部位 3 には、未反応のフリーの標識体のみを捕捉することができる機能が備わっており、被験試料中に標的物質が存在する場合には、上流より移動してきた標識複合体およびフリーの標識体のうち、フリーの標識体のみが捕捉され、標識複合体のみが、下流に移動する。また、被験試料中に標的物質が存在しない場合には、移動してくるのは、フリーの標識体のみであるので、標識体は、全て、未反応標識体捕捉部位 3 において捕捉され、下流に移動するのは、標識体を含まない液相のみとなる。

次いで、未反応標識体捕捉部位 3 を通過した液相は、その下流に設けられている、検出部位 4 に接触する。検出部位 4 では、標識体において用いた標識を顕在化させる、標識顕在化機能が備わっている。かかる標識顕在化機能は、用いた標識に対応する顕在化機能である。顕在化機能としては、例えば、標識複合体が、当初から目視可能な標識（例えば、金コロイド粒子等）である場合には、標識複合体を凝縮した形態で捕捉可能な検出要素、例えば、用いた環境汚染物質に特異的な抗体に対して特異的な抗体、すなわち、抗イムノグロブリンを用いることが好適である。この抗イムノグロブリン抗体は、用いた環境汚染物質に特異的な抗体のパラトープ（抗原結合部位）以外の箇所に対して結合する抗体（例えば、抗 F c 抗体等）を用いることが好適である。

このような、抗イムノグロブリン抗体を、検出要素として、稠密的に検出部位 4 において固定化することにより、液相と共に移動してきた標識を濃縮・顕在化することが可能となる。

また、例えば、用いた標識が、西洋ワサビペルオキシダーゼ等の発色機能を有する酵素のように、検出部位 4 において、酵素基質の接触による発色等を行うことが必要な場合には、検出部位 4 における検出要素は、単に、抗イムノグロブリン

ン抗体ではなく、用いた標識を顕在化させる試薬等が結合した態様であることが好適である。このような場合に、検出要素として、単に、発色機能を有する上記酵素等を用いる場合は、後で、改めて発色反応等を行わなければならない、取扱いが煩雑になってしまう。

なお、いずれの例においても、抗イムノグロブリン抗体等の検出要素は、毛細管現象により、液相と共に検出部位 4 から移動しない、結合状態で含まれることが、標識を顕在化させる上で好適である。この結合状態の態様は、結果として、検出要素が、液相の移動と共に、検出部位 4 から移動しない状態が提供されれば特に限定されず、例えば、検出要素として、検出対象となる環境汚染物質に特異的な抗体のパラトープ以外の箇所に対して結合する抗体である場合は、その抗体の溶液を、検出部位 4 に該当する部分に滴下することにより、所望する結合状態が提供される。

また、吸収部位 5 は、毛細管現象により、上流から下流に移動してきた液相を、最終的に吸収する部位である。この吸収部位 5 は、本検出器具 A においては、選択的要素であるが、被験試料を、さらに容易にメンブレンを移動させるために、設けることが好適である。

以上、記載したように、本検出器具 A 10 においては、被験試料中に標的物質が含まれている場合には、標的物質は、標識体反応部位 2 で、低分子化合物である標的物質と特異的に反応する標識体と、標識複合体を形成する。かかる標識複合体は、さらにメンブレン 6 上を移動するが、未反応標識体捕捉部位 3 では捕捉されず、検出部位 4 に達する。検出部位 4 では、標識複合体を顕在化する物質が固定化されているため、標識複合体は、検出部位 4 で濃縮され、目視可能なバンドとして検出される。

一方、被験試料中に、標的物質が含まれていない場合は、標識体反応部位 2 で、上記の標識複合体は形成されず、フリーの標識体が、液相と共に移動する。このフリーの標識体は、全て、未反応標識体捕捉部位 3 で捕捉され、検出部位 4 には、標識体は到達せず、その結果、標識体のバンドは検出部位 4 においては検出されない。

このように、本発明によって、従来は困難だった、環境汚染物質を、ポジティ

ブな指標により検出する手段が提供される。

本検出器具 B

上述した本検出器具 A は、極めて産業上有益であると考えられるが、この態様では、検出感度が期待するほどには上がりにくい傾向が認められる。

すなわち、本検出器具 A では、

1) 被験試料を、被験試料適用部位に接触させると、被験試料における溶媒と共に、標識抗体反応部位の標識抗体が、メンブレン上の未反応標識抗体捕捉部位に、一気に到達するため、標識抗体反応部位の標識抗体の量を十分とすると、未反応の標識抗体のすべてを、捕捉部位において捕捉することが困難となり、被験試料中に、標的物質が存在しない場合であっても、検出部位において、擬陽性反応が起こってしまう懸念が認められる。

2) 標識抗体反応部位の標識抗体のメンブレンへのリリースを促進させるため、界面活性剤処理を行うと、本来起こるべき抗原抗体反応が阻害され、被験試料中に標的物質が存在しない場合であっても、未反応標識抗体のすべてが捕捉部位で捕捉されず、検出部位において擬陽性反応が起こってしまう懸念が認められる。

3) 被験試料を被験試料適用部位に接触させる際に、被験試料における溶媒と共に、標識抗体反応部位の標識抗体が、一気にメンブレン上を移動するため、標識抗体と反応可能な被験試料中の標的物質は一部のみとなり、たとえ、被験試料の量を増やしても、検出感度の上昇にはつながり難い傾向が認められる。

等の問題点が生ずる傾向が認められる。

本検出器具 B は、本検出器具 A が有する問題点を回避しつつ、被験物質中の標的物質であるダイオキシン類等の環境汚染物質に代表される低分子物質の検出を行うことができる態様の本検出器具である。

第 3 図は、本検出器具 B の一実施態様を示した図面（上面図）であり、第 4 図は、第 3 図の本検出器具 B 30 を、実線 II - II' に沿って横断して示した横断面図である。

本検出器具 B 30 において、反応物接触部位 21、メンブレン 25、および、吸収部位 24 は、各々、細長形状の薄膜 6 の上面に全部または一部が、接着している。また、未反応標識抗体捕捉部位 22 と検出部位 23 は、メンブレン 25 上

に、各々、設けられている。

より詳細には、まず、薄膜 26 の一端に、反応物接触部位 21 の一端側が接着されている。これに対して、反応物接触部位 21 の他端側は、その一端が反応物接触部位 21 の薄膜 26 との接着部分（反応物接触部位 21 の一端側）と隣合っており、その全面が薄膜 26 に接着されているメンブレン 25 の、一端側の上面に被さって、メンブレン 25 と接触している。薄膜 26 の他端側には、吸収部位 24 の一端側が接着されており、この吸収部位 24 の他端側は、メンブレン 25 の他端側の上面に被さって、メンブレン 25 と接触している。

未反応標識抗体捕捉部位 22 と検出部位 23 は、両者共、これらの部位を構成する化学成分を、メンブレン 25 に固定することにより、メンブレン 25 において設けられている。

本検出器具 B 30 は、被験試料を、そのまま、被験試料適用部位等に接触させるのではなく、予め、被験試料と標識抗体を接触させて得た反応物を、反応物接触部位 21 に接触させることを前提とする、イムノクロマトグラフィーを用いた検出用器具である。この点において、本検出器具 B 30 は、被験試料を、そのまま被験試料適用部位に接触させる、従来のイムノクロマトグラフィーを用いた検出用器具と異なっている。

このことにより、被験試料と標識抗体を十分に反応させることが可能になり、この反応を行った反応物を、本検出器具 B 30 に対して用いることにより、標識抗体が、一気に未反応標識抗体捕捉部位に到達するのを抑制することが可能となり、上述した擬陽性反応が抑制されて、検出感度が向上し、例えば、環境中における極微量の存在が問題となる低分子物質を、簡便、かつ、鋭敏に検出することが可能である。

本検出器具 B 30 において、上記の反応物は、これを接触させる反応物接触部位 21 から吸収部位 24 に向けて、毛細管現象により移動して、被験試料中の低分子物質の検出が行われる（以下、本検出器具 B の反応物接触部位側を「上流」、同吸収部位側を「下流」ともいう）。第 3 図および第 4 図において、上流から下流への反応物の移動方向は、矢印 29 により示される。

標識抗体と被験試料は、本検出器具 B とは別個に反応させる故に、標識抗体は、

本検出器具Bの必須ではないが、本検出器具Bを用いて、低分子物質を検出するには必須である。

すなわち、本発明は、反応物接触部位において接触させた、被験試料中の標的物質に結合し得る標識抗体と被験試料の反応物中の、標識抗体と標的物質の複合体、および／または、標的物質を結合していないフリーの標識抗体を検出することにより、被験試料中の標的物質の検出を行う、本検出器具Bの使用法（本使用法）を提供する発明である。

また、本使用法を行うための、本検出器具Bおよび標識抗体を、構成要素として含む低分子物質検出用セット（本検出用セット）を提供する発明である。

好適には、本検出用セットの一要素として用いられ得る、標識抗体の一部として用いることが可能な抗体、すなわち、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体は、ポリクローナル抗体であっても、モノクローナル抗体であってもよく、検出の対象とする環境汚染物質等の低分子物質を選んで、これを免疫抗原（必要に応じて、目的とする環境汚染物質をターゲットとしたハプテンをキャリアタンパクと結合させたものとすることも可能である）として、常法により製造して用いることができる（この一般的な製造方法は、本検出器具Aについての当該製造方法の説明と同様である）。

本検出器具Bを用いる態様では、標識抗体は、乾燥状態で保たれていることが好適であり、例えば、安定化剤として、各種の糖、界面活性剤、グリセロール等の多価アルコール等と共存させ、熱、真空または凍結等の手段により乾燥を行い、乾燥状態となった標識抗体291を、例えば、密閉状態とすることが可能な容器292中において、好適には、乾燥剤を用いて、乾燥状態を保ちつつ保存することが好適である（第5図：本検出器具B30と標識抗体291を封入した容器292のセットが、本検出用セットの典型的な態様である）。

本検出器具B30、または、これを構成要素として含む本検出用セットを用いて、本検出方法により、被験試料中の標的物質の検出を試みる場合、被験試料中に標的物質が存在する場合には、反応物中に存在する、標識抗体と標的物質が結合した標識複合体とフリーの標識抗体が、共に、下流に向けて移動する。これに対して、標的物質が被験試料中に存在しない場合には、反応物中にも標識複合体

は存在せず、フリーの標識抗体のみが下流に向けて移動する。

上述したように、本検出器具 B 3 0 においては、メンブレン 2 5（毛細管現象により、液相の移動が可能な素材、例えば、多孔性のクロマトメンブレン、ニトロセルロースメンブレン等が好適である。特に、多孔性のクロマトメンブレンは、多孔性故、西洋ワサビペルオキシダーゼ等の蛋白質や、金コロイド粒子等の金属コロイド粒子、ラテックス粒子等の標識がメンブレン中を容易に移動可能であり、好適である。）上に、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 と検出部位 2 3 が、上流から下流に向けて設けられている。

毛細管現象により、上流から移動してきた、標識複合体および／またはフリーの標識抗体は、まず、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 に接触する。未反応標識抗体捕捉部位には、文字通り、未反応のフリーの標識抗体のみを捕捉することができる機能が付与されている。かかる機能の態様としては、標識抗体の一部を構成する標的物質に対する抗体が反応して結合することが可能な物質、具体的には、標的物質そのもの、または、このような結合反応が認められる標的物質の類似物質を挙げることができる。未反応標識抗体捕捉部位 2 2 では、これらの標的物質等が、液相の移動に伴って、移動することのないよう、結合状態であることが必要である。標的物質は、低分子物質であるため、所望の結合状態とするためには、例えば、B S A 等のキャリア蛋白に、標的物質等を結合させ、この蛋白結合させた標的物質等を、蛋白固定の常法により、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 に、結合状態で定着させることが好適である。

このように、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 には、未反応のフリーの標識抗体のみを捕捉することができる機能が備わっており、被験試料中に標的物質が存在する場合には、上流より移動してきた標識複合体およびフリーの標識抗体のうち、フリーの標識抗体のみが捕捉され、標識複合体のみが、下流に移動する。また、被験試料中に標的物質が存在しない場合には、移動するのは、フリーの標識抗体のみである。よって、標識抗体の、ほとんど全てが、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 において捕捉され、下流に移動するほとんどが、標識抗体を含まない液相となる。

次いで、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 を通過した液相は、その下流に設けられ

ている、検出部位 2 3 に接触する。検出部位 2 3 では、標識抗体において用いた標識を顕在化させる、標識顕在化機能が備わっている。かかる標識顕在化機能は、用いた標識に対応する顕在化機能である。顕在化機能としては、例えば、標識複合体が、当初から目視可能な標識（例えば、金コロイド粒子等）である場合には、標識複合体を凝縮した形態で捕捉可能な検出要素、例えば、用いた環境汚染物質に特異的な抗体に対して特異的な抗体、すなわち、抗イムノグロブリンを用いることが好適である。この抗イムノグロブリン抗体は、用いた環境汚染物質に特異的な抗体のパラトープ（抗原結合部位）以外の箇所に対して結合する抗体（例えば、抗 F c 抗体等）を用いることが好適である。

このような、抗イムノグロブリン抗体を、検出要素として、稠密的に検出部位 2 3 において固定化することにより、液相と共に移動してきた標識を濃縮・顕在化することが可能となる。

また、例えば、用いた標識が、西洋ワサビペルオキシダーゼ等の発色機能を有する酵素のように、検出部位 2 3 において、酵素基質の接触による発色等を行うことが必要な場合には、検出部位 2 3 における検出要素は、単に、抗イムノグロブリン抗体ではなく、用いた標識を顕在化させる試薬等が結合した態様であることが好適である。このような場合に、検出要素として、単に、発色機能を有する上記酵素等を用いる場合は、後で、改めて発色反応等を行わなければならない、取扱いが煩雑になってしまう。

なお、いずれの例においても、抗イムノグロブリン抗体等の検出要素は、毛細管現象により、液相と共に検出部位 2 3 から移動しない、結合状態で含まれることが、標識を顕在化させる上で好適である。この結合状態の態様は、結果として、検出要素が、液相の移動と共に、検出部位 2 3 から移動しない状態が提供されれば特に限定されず、例えば、検出要素として、検出対象となる環境汚染物質に特異的な抗体のパラトープ以外の箇所に対して結合する抗体である場合は、その抗体の溶液を、検出部位 2 3 に該当する部分に滴下することにより、所望する結合状態が提供される。

また、吸収部位 2 4 は、毛細管現象により、上流から下流に移動してきた液相を、最終的に吸収する部位である。この吸収部位 2 4 は、本検出器具 B 3 0 にお

いては、選択的要素であるが、被験試料を、さらに容易にメンブレンを移動させるために、設けることが好適である。

以上、記載したように、本検出器具 B 3 0 においては、被験試料中に標的物質が含まれている場合には、標的物質は、容器 2 9 2 中において、低分子化合物である標的物質と特異的に反応する標識抗体 2 9 1 と、標識複合体を形成する。かかる標識複合体は、反応物接触部位 2 1 に接触した後、さらにメンブレン 2 5 上を移動するが、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 では捕捉されず、検出部位 2 3 に達する。検出部位 2 3 では、標識複合体を顕在化する物質が固定化されているため、標識複合体は、検出部位 2 3 で濃縮され、目視可能なバンドとして検出される。

一方、被験試料中に、標的物質が含まれていない場合は、標識抗体反応部位 2 2 で、上記の標識複合体は形成されず、フリーの標識抗体が、液相と共に移動する。このフリーの標識抗体の、ほとんど全てが、未反応標識抗体捕捉部位 2 2 で捕捉され、検出部位 2 3 には、標識抗体は、ほとんどが到達せず、その結果、標識抗体のバンドは検出部位 2 3 においては、ほとんど検出されない。

このように、本検出器具 B 3 0、または、これを要素として含む本検出用セットによって、本使用方法を行うことにより、環境汚染物質等を、ポジティブな指標により検出することが可能であり、かつ、上述したように、従来のこのような方式のイムノクロマトグラフィーを用いた検出用器具において認められがちであった、過剰のフリーの標識抗体等による擬陽性反応を抑制することが可能となる。

なお、この本検出器具 B 3 0 は、本発明の一実施態様であり、本発明の範囲内において、他の態様をとることが可能である。例えば、メンブレン上に、反応物（標識複合体）が捕捉されるラインのみを、結合状態で含み、このラインで捕捉されない標識抗体を検出することにより、標的物質をネガティブな指標により検出する、イムノクロマトグラフィー等にも利用可能である。

実施例

以下、実施例により、本発明をさらに具体的に説明する。

A. 本検出器具 A に関する実施例

A 1. C o - P C B # 1 2 6 モノクローナル抗体作製のための免疫抗原の調製

C o - P C B # 1 2 6 をターゲットとしたハプテン、6-[3, 3, 4, 5-

Tetrachlorobiphenyl-4-yl]oxy] hexanoic acid (低分子化合物126)は、既に報告されている、Ya-Wen Chiuら (Analytical Chemistry, 1995, 67, 3829) における 6-[(3, 3, 4-Trichlorobiphenyl-4-yl)oxy] hexanoic acid の合成法に若干の改善を加え、合成を行った。

すなわち、2-chloroanisoleと3, 4, 5-trichloroanilineとのcadogan カップリング反応により、3, 3', 4', 5'-tetrachloro-4-methoxybiphenylを合成し(収率12%)、三臭化ホウ素による脱メチル反応により、3, 3', 4', 5'-tetrachloro-4-hydroxybiphenylを得(収率90%)、これに、ethyl-6-bromohexanoateを反応させ、6-[(3, 3', 4', 5'-tetrachloro-4-yl)oxy]hexanoate を得(収率90%)、これをアルカリ加水分解することで、6-[(3, 3', 4', 5'-tetrachloro-4-yl)oxy]hexanoic acid (収率95%)を合成した。

得られたハプテンは、N-hydroxysuccinimideを用いたNHSエステル法(P. Schneider and B. D. Hammock, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 2, 85)により、カプトガニヘモシアニン(K L H)と結合させ、C o - P C B # 1 2 6モノクローナル抗体作製のための抗原として利用した。

すなわち、得られたハプテンを、1-ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]carbodiimide とN-hydroxysuccinimideを用いて、活性エステルとした後、K L Hのアミノ基とのアミド結合を形成させ、ハプテン-K L H-コンジュゲートを得た。

A 2. C o - P C B # 1 2 6モノクローナル抗体作製

上記方法により作製、精製したC o - P C B # 1 2 6低分子化合物-K L Hコンジュゲートを、b a l b / cマウスにRibi Adjuvant System (C o r i x a社製)とともに、2週間おきに最大8回の免疫を行い、尾静脈に追加免疫を行った後、通常法により、脾臓中の抗体産生細胞とミエローマ細胞との細胞融合を行った。得られたハイブリドーマは、培養上清をC o - P C B # 1 2 6低分子化合物蛋白コンジュゲートを固相化したプレートを用いてスクリーニングを行い、C o - P C B # 1 2 6に特異的に反応する抗体を産生するハイブリドーマを選択した。

本実験に使用する抗体は、得られたハイブリドーマをプリスタン処理したマウス腹腔に投与し、通常法により腹水を採取後、陰イオン交換クロマトグラフィー

で精製したものを利用した。

A 3. クロマトメンブレンの未反応標識体反応部位に固相化するための低分子化合物-蛋白質コンジュゲート調製

上記方法 1 において合成した低分子化合物 1 2 6 を、上記方法 1 と同様の手法でウシ血清アルブミン (B S A) と結合させ、透析により精製を行った後、クロマトメンブレンの未反応標識体捕捉部位に固定化するための低分子化合物-蛋白質コンジュゲートとして利用した。

A 4. クロマトメンブレンの調整

ハイフロープラスメンブレン: H F 9 0 (2 5 mm×3 0 cm、ミリポア社) の下端から 5 mm の位置に未反応標識体捕捉部位として、上記方法 3 にて合成した低分子化合物 1 2 6・B S A コンジュゲートを塗布し、また、下端から 1 5 mm の位置に検出部位として、抗マウス I g G ウサギ抗体 (Z y m e d) を塗布した。これら溶液は、X Y Z ハンドリングシステム (B i o D o t 社) を用いてライン状に塗布した。塗布後、メンブレンは室温で 1 晩放置により乾燥させ、クロマトメンブレンとして用いた。

A 5. 金コロイド粒子標識抗 C o - P C B モノクローナル抗体の作製

金コロイド粒子 (平均粒子径約 4 0 nm、B B I n t e r n e t i o n a l) への抗 C o - P C B モノクローナル抗体の結合は、B B I n t e r n a t i o n a l のプロトコルに従い行った。得られた金コロイド標識抗 C o - P C B モノクローナル抗体溶液は、O D 5 2 0 の値が 5 ~ 6 になるよう調整し、使用まで冷蔵保存を行った。

A 6. 金コロイドパッド (標識体反応部位) の作製

グラスファイバー製のコンジュゲートパッド (1 0 mm×3 0 cm、ミリポア社製) に、上記方法により得られた金コロイド標識抗体液 (最終濃度: 1 6 %) に浸し、真空乾燥機で十分乾燥させたものを金コロイドパッドとして使用した。

A 7. サンプルパッド (被験試料質適用部位) の調整

サンプルパッド (2 0 mm X 3 0 cm、ミリポア) を 2 % サッカロース、1 % B S A、1 % T r i t o n X - 1 0 0、P B S 溶液に浸し、真空乾燥機で十分乾燥させたものをサンプルパッドとして使用した。

A 8. 本検出器具Aの組み立て

上記方法により作製した、サンプルパッド、金コロイドパッドおよびクロマトメンブレンを、ラミネートカード（ミリポア）に、第1図および第2図に示したように装着した。さらに吸収パッド（17mm×30cm、ミリポア社製）を装着後、ギロチン型カッター（BioDot社）を用いて、ラミネートカードを、幅5mmに切断し、本検出器具Aとして用いた。

A 9. Co-PCB#126の測定

Co-PCB#126を、25%DMSO、TBS溶液で10ppm、5ppm、2.5ppm、1.25ppm、1ppm、0.1ppmに希釈した。これらの希釈Co-PCB#126、150μLをサンプルとして、8で組み立てた、本検出器具の、被験試料適用部位に滴下し、一定時間後（第1表参照）に検出部位の着色度合いを目視により判定した。その結果を、第1表に示す。

第1表

| Co-PCB126濃度 (ppm) | 検出部位の着色度合い | | | |
|----------------------|------------|-----|------|------|
| | 3分後 | 5分後 | 10分後 | 20分後 |
| 10 | — | — | + | ++ |
| 5 | — | + | ++ | ++ |
| 2.5 | + | + | ++ | ++ |
| 1.25 | + | + | ++ | ++ |
| 1 | — | — | + | + |
| 0.1 | — | — | — | — |
| 0 | — | — | — | — |

〔判定基準〕 ++：強い着色 +：弱い着色 —：着色無し

A 10. 結果

サンプル滴下10分後、目視判定により、サンプル中のCo-PCB濃度が1ppm 以上の場合、陽性と判断可能であることが分かった。

B. 本検出器具Bに関する実施例

B 1. Co-PCB#118モノクローナル抗体作製のための免疫抗原の調製

Co-PCB#118をターゲットとした低分子化合物、6-[3,2',4',5'-

Tetrachlorobiphenyl-4-yl]oxy] hexanoic acid (低分子化合物 118) は、既に報告されている、Ya-Wen Chiu ら (Analytical Chemistry, 1995, 67, 3829) における、6-[(3, 3', 4'-Trichlorobiphenyl-4-yl)oxy] hexanoic acid の合成法に若干の改善を加え、合成を行った。

得られた低分子化合物は、N-hydroxysuccinimide を用いた NHS エステル法 (P. Schneider and B. D. Hammock, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 2, 85) により、カプトガニヘモシアニン (KLH) と結合させ、C o - P C B # 1 1 8 モノクローナル抗体作製のための抗原として利用した。

B 2. C o - P C B # 1 1 8 モノクローナル抗体作製

上記方法により作製、精製した C o - P C B # 1 1 8 低分子化合物-KLH コンジュゲートを、b a l b / c マウスに Ribi Adjuvant System (C o r i x a 社製) とともに、2 週間おきに最大 8 回の免疫を行い、尾静脈に追加免疫を行った後、通常法により、脾臓中の抗体産生細胞とミエローマ細胞との細胞融合を行った。得られたハイブリドーマは、培養上清を C o - P C B # 1 1 8 低分子化合物蛋白コンジュゲートを固相化したプレートを用いてスクリーニングを行い、C o - P C B # 1 1 8 に特異的に反応する抗体を産生するハイブリドーマを選択した。

本実験に使用する抗体は、得られたハイブリドーマをプリスタン処理したマウス腹腔に投与し、通常法により腹水を採取後、陰イオン交換クロマトグラフィーで精製したものを利用した。

B 3. クロマトメンブレンの未反応標識体反応部位に固相化するための低分子化合物-蛋白質コンジュゲート調製

上記方法 1 において合成した低分子化合物 1 1 8 を、上記方法 1 と同様の手法でウシ血清アルブミン (B S A) と結合させ、透析により精製を行った後、クロマトメンブレンの未反応標識抗体捕捉部位に固定化するための低分子化合物-蛋白質コンジュゲートとして利用した。

B 4. クロマトメンブレンの調整

ハイフロープラスメンブレン: HF 9 0 (2 5 mm × 3 0 cm、ミリポア社) の下端から 5 mm の位置に未反応標識抗体捕捉部位として、上記方法 3 にて合成した

低分子化合物 118・BSAコンジュゲートを塗布し、また、下端から15mmの位置に検出部位として、抗マウスIgGウサギ抗体（Zymed）を塗布した。これら溶液は、XYZハンドリングシステム（BioDot社）を用いてライン状に塗布した。塗布後、メンブレンは室温で1晩放置により乾燥させ、クロマトメンブレンとして用いた。

B5. 金コロイド粒子標識抗C_o-PCBモノクローナル抗体の作製

金コロイド粒子（平均粒子径約40nm、BBInternational）への、上記方法2. で得た、抗C_o-PCBモノクローナル抗体の結合は、BBInternationalのプロトコルに従い行った。得られた金コロイド標識抗C_o-PCBモノクローナル抗体溶液は、OD520の値が5～6になるよう調整し、使用まで冷蔵保存を行った。

B6. コンジュゲートパッド装着タイプの検出器具の組み立て

グラスファイバー製のコンジュゲートパッド（10mm×30cm、ミリポア社製）に、上記方法により得られた金コロイド標識抗体液（最終濃度：16%）を浸し、真空乾燥機で十分乾燥させたものを金コロイドパッドとして使用した。また、コットンパッド（20mm×30cm、ミリポア社製）を、2%サッカロース、1%BSAおよび1%TritonX-100を含有するPBS溶液に浸し、真空乾燥機で十分乾燥させたものを、サンプルパッドとして使用した。これらのパッドおよび上記方法4. において作成したクロマトメンブレンを、ラミネートカード（ミリポア社製）に装着し、さらに、吸収パッド（17mm×30cm、ミリポア社製）を装着後、ギロチン型カッター（BioDot社製）を用いて、ラミネートカードを、幅5mmに切断し、免疫クロマトグラフィー装置として用いた。

B7. 本検出方法（本検出用セット）において用いる標識抗体と検出用器具の作製

プラスチック製の1.5mlエッペンチューブ中に、上記方法5. により得られた金コロイド標識抗体液（最終濃度：1%）およびサッカロース液（最終濃度：3%）の100μl混合液を入れ、真空乾燥機で十分乾燥させたものを、乾燥標識抗体として使用した。また、反応物接触部位として、グラスファイバーフィルター（Schleicher & Schuell）および上記方法4. において作製したクロマ

トメンブレンを、ラミネートカード（ミリポア社製）に装着し、さらに、吸収パッド（17mm×30cm、ミリポア社製）を装着後、ギロチン型カッター（Bio Dot社製）を用いて、ラミネートカードを、幅5mmに切断し、免疫クロマトグラフィー装置として用いた。

B 8. コンジュゲートパッド装着タイプの検出器具Bを利用したCo-PCB #118の検出

Co-PCB #118を、20%DMSO含有TBS溶液で、200 ppm、20 ppm、2 ppm、0.2 ppm、0.02 ppmに希釈した。これらの希釈Co-PCB #118、150 μ Lをサンプルとして、被験試料適用部位に滴下し、一定時間後（第2表参照）に検出部位の着色度合いを目視により判定した。その結果を、第2表に示す。

第2表

| Co-PCB 118 濃度 (ppm) | 検出部位の着色度合い | | | |
|------------------------|------------|------|-------|-------|
| | 3 分後 | 5 分後 | 10 分後 | 20 分後 |
| 200 | — | — | + | ++ |
| 20 | — | — | + | ++ |
| 2 | — | — | + | + |
| 0.2 | — | — | — | — |
| 0.02 | — | — | — | — |
| 0 | — | — | — | — |

〔判定基準〕 ++：強い着色 +：弱い着色 —：着色無し

B 9. 本検出用器具を用いたCo-PCB #118の検出

Co-PCB #118を、20%DMSO含有TBS溶液で、200 ppm、20 ppm、2 ppm、0.2 ppm、0.02 ppmに希釈した。これらの希釈Co-PCB #118、150 μ Lを、上記方法7. で得た、乾燥標識抗体と十分に混合後、同じく、上記方法7. で得た本検出用器具の反応物接触部位に滴下し、一定時間後（第3表参照）に、検出部位の着色度合いを目視により判定した。その結果を、第3表に示す。

第3表

| Co-PCB 118 濃度 (ppm) | 検出部位の着色度合い | | | |
|------------------------|------------|------|--------|--------|
| | 3 分後 | 5 分後 | 1 0 分後 | 2 0 分後 |
| 2 0 0 | — | + | ++ | ++ |
| 2 0 | — | + | ++ | ++ |
| 2 | — | + | ++ | + |
| 0. 2 | — | — | + | + |
| 0. 0 2 | — | — | — | — |
| 0 | — | — | — | — |

〔判定基準〕 ++ : 強い着色 + : 弱い着色 — : 着色無し

B 1 0. 結果

コンジュゲートパッド装着タイプの検出器具Aを利用した場合、C o - P C B # 1 1 8 測定サンプル滴下 2 0 分間における目視判定により、2 ppm 以上が陽性と判定されたのに対して、本検出器具Bにおいて、本使用方法を行った場合は、0. 2 ppm 以上が陽性となり、従来品であるコンジュゲートパッド装着タイプの検出器具Aに比べ、検出感度が1 0 倍以上向上したことが確認された。

B 1 1. C o - P C B # 1 1 8 の半定量

なお、本検出器具Bにおいても、従来品であるコンジュゲートパッド装着タイプの検出器具Aにおいても、検出部位の着色度合いと、未反応標識抗体捕捉部位の着色度合いを指標にして、標的物質であるC o - P C B # 1 1 8 の半定量（標的物質の存在オーダーを明らかにすることを示す）が可能であった。すなわち、まず、コンジュゲートパッド装着タイプの検出器具Aにおいて、第2表の検出部位の着色度合いに、未反応標識抗体捕捉部位の着色度合いを加味すると、第4表に示す結果が得られた。

第 4 表

| Co-PCB 1 1 8 濃度 (ppm) | 検出部位の着色度合い (右側記号) | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|------|--------|--------|--|--|--|--|
| | 未反応標識抗体捕捉部位の着色度合い (左側記号) | | | | | | | |
| | 3 分後 | 5 分後 | 1 0 分後 | 2 0 分後 | | | | |
| 2 0 0 | — — | — — | — + | — ++ | | | | |
| 2 0 | — — | — — | — + | — ++ | | | | |
| 2 | — — | + — | + + | + + | | | | |
| 0. 2 | — — | + — | + — | ++ — | | | | |
| 0. 0 2 | — — | + — | ++ — | ++ — | | | | |
| 0 | — — | + — | ++ — | ++ — | | | | |

〔判定基準〕 ++ : 強い着色 + : 弱い着色 — : 着色無し

この結果により、本例のコンジュゲートパッド装着タイプの検出器具 A において、1) 未反応標識抗体捕捉部位の着色が弱いまたは確認できない状態で検出部位の着色が強い場合は、Co-PCB 1 1 8 濃度が、2 0 ppm 以上であり、2) 未反応標識抗体捕捉部位および検出部位の着色が、両者とも認められる場合は、Co-PCB 1 1 8 濃度が、2 ~ 2 0 ppm であり、3) 未反応標識抗体捕捉部位の着色が強く、検出部位の着色が確認できない場合には、Co-PCB 1 1 8 濃度が、ppm 以下であることがわかる。

次に、本検出器具 B において、第 3 表の検出部位の着色度合いに、未反応標識抗体捕捉部位の着色度合いを加味すると、第 5 表に示す結果が得られた。

第 5 表

| Co-PCB 1 1 8 濃度 (ppm) | 検出部位の着色度合い (右側記号) | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|------|--------|--------|--|--|--|--|
| | 未反応標識抗体捕捉部位の着色度合い (左側記号) | | | | | | | |
| | 3 分後 | 5 分後 | 1 0 分後 | 2 0 分後 | | | | |
| 2 0 0 | — — | — + | — ++ | — ++ | | | | |
| 2 0 | — — | — + | — ++ | — ++ | | | | |
| 2 | — — | + + | + ++ | + + | | | | |
| 0. 2 | — — | + — | + + | ++ — | | | | |
| 0. 0 2 | — — | + — | ++ — | ++ — | | | | |
| 0 | — — | + — | ++ — | ++ — | | | | |

〔判定基準〕 ++ : 強い着色 + : 弱い着色 — : 着色無し

この結果より、1) 未反応標識抗体補足部位の着色が、非常に弱い、または、確認できない状態で、検出部位の着色が強い場合には、Co-PCB 1 1 8 濃度が、20 ppm 以上であり、2) 未反応標識抗体補足部位の着色が弱く、検出部位の着色が強い場合は、2 ~ 20 ppm、3) 未反応標識抗体補足部位の着色が強く、検出部位の着色が弱い場合は、0.2 ~ 2 ppm、4) 未反応標識抗体補足部位の着色が強く、検出部位の着色が確認できない場合は、Co-PCB 1 1 8 濃度が、0.2 ppm 以下であることがわかる。

産業上の利用可能性

本発明により、疑似陽性反応等が抑制されて、簡便であり、かつ、鋭敏な、被験物質中の標的物質であるダイオキシン類等の環境汚染物質に代表される低分子物質の検出手段が提供される。

請求の範囲

1. 被験試料を接触させるための被験試料適用部位が設けられており、当該被験試料適用部位に接触させた被験試料中の標的物質を、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体における標識を指標にして、被験試料中の標的物質を検出可能な、イムノクロマトグラフィーを用いた低分子物質検出用器具。
2. 低分子物質検出用器具が、1) 被験試料を接触させるための被験試料適用部位、2) 被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識体を非結合状態で含む標識体反応部位、3) 標的物質に結合していないフリーの標識体を捕捉することが可能な要素を結合状態で含む未反応標識体捕捉部位、および、4) 標識体が結合した標的物質と接触すると視覚的な変化を生じる検出要素を含む検出部位が設けられている、請求の範囲第1項記載の低分子物質検出用器具。
3. 低分子物質検出用器具の被験試料が、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体と被験試料の反応物であり、当該被験試料中の標的物質を検出可能な、請求の範囲第1項記載の低分子物質検出用器具。
4. 下記の1) および2) が設けられている、請求の範囲第3項記載の低分子物質検出用器具。
 - 1) 標的物質に結合していないフリーの標識抗体を捕捉することが可能な要素を結合状態で含む、未反応標識抗体捕捉部位。
 - 2) 標識抗体が結合した標的物質と接触すると視覚的な変化を生じる検出要素を含む、検出部位。
5. 検出部位における検出要素が、金属コロイド粒子またはラテックス粒子である、請求の範囲第2項または第4項記載の低分子物質検出用器具。
6. 検出部位における検出要素が、当該検出部位に結合した状態である、請求の範囲第2項または第4項記載の低分子物質検出用器具。
7. 未反応標識体捕捉部位における、標的物質に結合していないフリーの標識体を捕捉することが可能な要素が、標的物質、または、標的物質の類似物質である、請求の範囲第2項または第4項に記載の低分子物質検出器具。
8. 未反応標識体捕捉部位、および、検出部位が、多孔性のクロマトグラフィー

用メンブレンに固定化された担体を基材とする、請求の範囲第2項または第4項に記載の低分子物質検出器具。

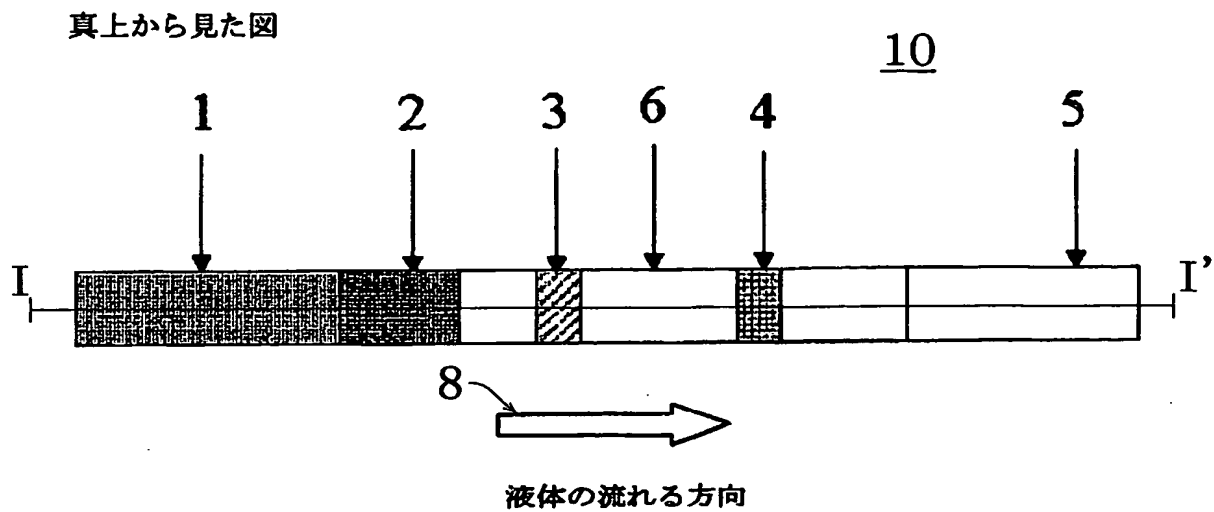
9. 標的物質が、ダイオキシン類、および／または、PCB類である、請求の範囲第1項～第8項のいずれかに記載の低分子物質検出器具。

10. 被験試料適用部位において接触させた、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体と被験試料の反応物中の、標識抗体と標的物質の複合体、および／または、標的物質を結合していないフリーの標識抗体を検出することにより、被験試料中の標的物質の検出を行う、請求の範囲第3項に記載の低分子検出用器具の使用方法。

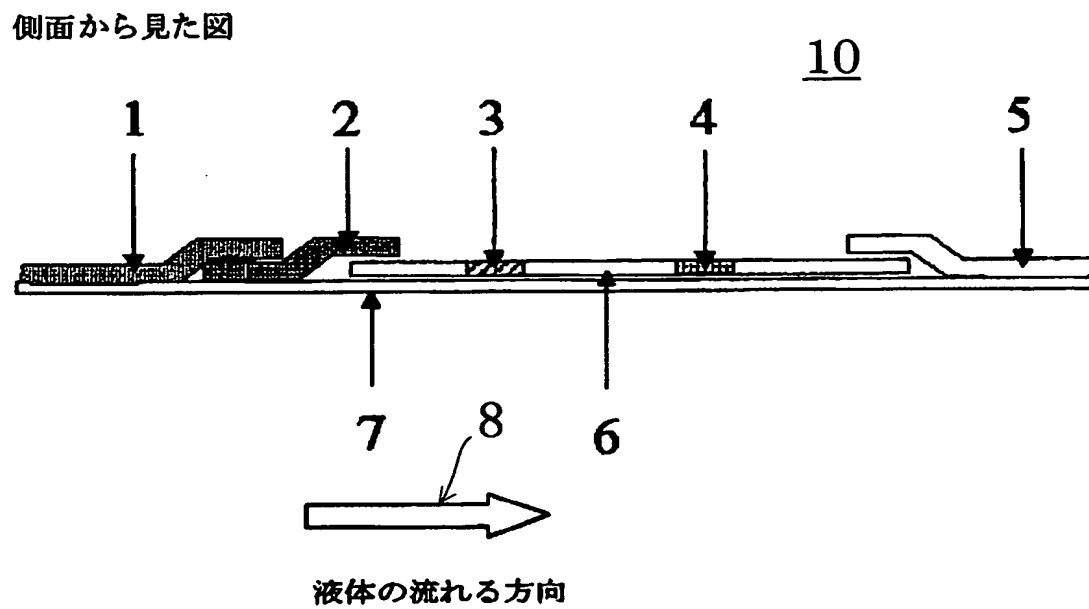
11. 請求の範囲第1項～第9項のいずれかに記載の低分子物質検出器具、および、被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体を、構成要素として含む、低分子物質検出用セット。

12. 被験試料中の標的物質に結合し得る抗体を一部とする標識抗体が、乾燥状態で保たれている、請求の範囲第11項記載の低分子物質検出用セット。

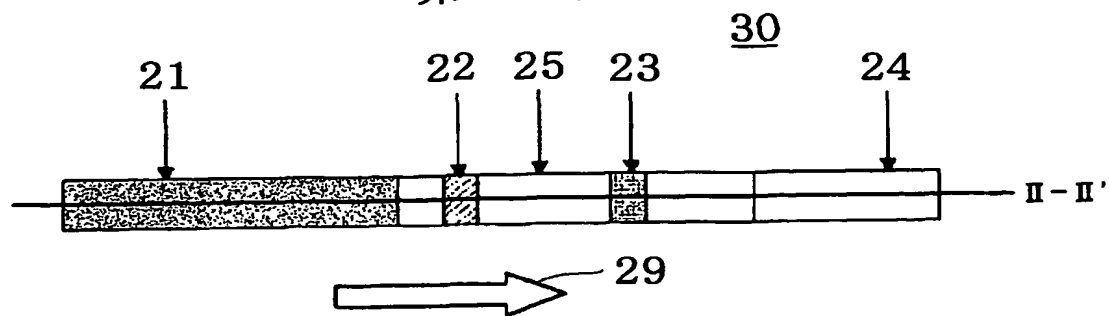
第 1 図



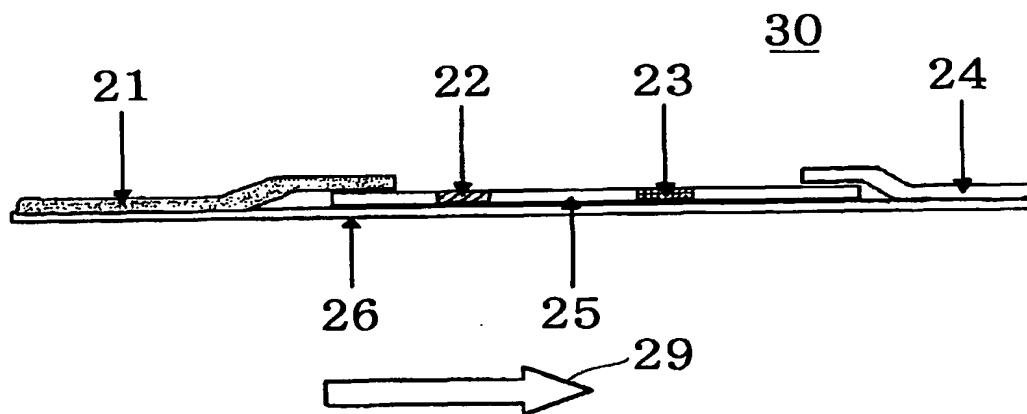
第 2 図



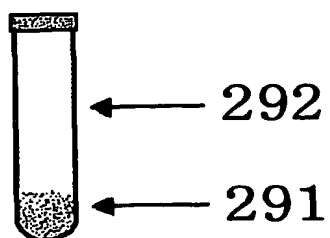
第 3 図



第 4 図



第 5 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N33/543, G01N33/553, G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N33/543, G01N33/553, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1922-1996 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2003 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2003 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2003 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y | JP 11-083856 A (Bayer Corp.), 26 March, 1999 (26.03.99), Fig. 1; Claims; examples & EP 895084 A & AU 729380 A & AU 7744098 A & US 6436721 A | 1-12 |
| Y | JP 2001-330609 A (Fuji Chemical Industries, Ltd.), 30 November, 2001 (30.11.01), Claims; examples (Family: none) | 1-12 |
| Y | JP 2000-191699 A (Teijin Eco Science Kabushiki Kaisha), 11 July, 2000 (11.07.00), Claims (Family: none) | 1-12 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 April, 2003 (09.04.03)

Date of mailing of the international search report
22 April, 2003 (22.04.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02657

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y | JP 2001-226371 A (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 August, 2001 (21.08.01), Claims & EP 1256579 A & AU 3232101 A & WO 01/60812 A | 1-12 |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N33/543, G01N33/553, G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N33/543, G01N33/553, G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2003年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2003年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2003年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Y | JP 11-083856 A(バイエルコーポレーション) 1999. 03. 26 第1図、特許請求の範囲、実施例等参照 & EP 895084 A & AU 729380 A & AU 7744098 A & US 6436721 A | 1-12 |
| Y | JP 2001-330609 A(富士薬品工業株式会社) 2001. 11. 30 特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし) | 1-12 |
| Y | JP 2000-191699 A(帝人エコ・サイエンス株式会社) 2000. 07. 11 特許請求の範囲 (ファミリーなし) | 1-12 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09. 04. 03

国際調査報告の発送日

22.04.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

加々美 一恵

2J

9408

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | JP 2001-226371 A (大塚製薬株式会社) 2001.08.21 特許請求の範囲 & EP 1256579 A & AU 3232101 A & WO 01/60812 A | 1-12 |